

Des vitamines dans le sol ?

par W. H. SCHOPFER

(Institut et Jardin botaniques de l'Université, Berne)

Nous avons l'honneur de dédier ces quelques pages à M. le Dr I. Mariétan, à l'occasion de sa 20^{me} année de présidence de la « Murithienne », en lui exprimant nos vives félicitations pour la belle et grande œuvre qu'il accomplit depuis tant d'années en Valais. Le naturaliste averti qu'il est peut ainsi se persuader qu'un problème ne relevant apparemment que du laboratoire retourne finalement à la Nature où il nous aide à mieux comprendre le comportement des êtres vivants. N'est-ce pas là l'un des buts principaux de toute recherche biologique ?

Des vitamines dans le sol ? La question semble amusante. Elle est pourtant des plus sérieuses. Mais, que l'on se tranquillise : il ne s'agit pas là de filons et de gîtes pouvant donner lieu à une exploitation industrielle.

Comment peut-on les déceler ? Quels sont leur origine et leur rôle dans le sol ? Telles sont les questions auxquelles nous allons répondre brièvement.

Ce que sont les vitamines, tout le monde le sait ou croit le savoir : des substances absolument indispensables à l'alimentation humaine et animale. D'une manière primaire, elles ne se *forment* que chez les plantes, avant tout les plantes vertes, qui les livrent aux animaux. L'animal en a besoin car il ne sait pas les fabriquer lui-même. Il doit les recevoir, mêlées à des aliments complexes, de nature carbonée et azotée, aux dépens desquels il édifie sa propre matière vivante. La plante au contraire, malgré la simplicité de sa structure, comparée à celle d'un animal supérieur, possède un pouvoir à tous égards remarquable, duquel dépendent non seulement sa vie propre, mais toutes les manifestations vitales dont notre planète est le siège : celui de synthétiser ses substances les plus complexes à partir d'éléments ou de composés très simples. En effet, à partir du gaz carbonique de l'air, de l'eau et de sels minéraux parmi lesquels les nitrates jouent un rôle éminent, la cellule végétale édifie ses matières protéiques les plus complexes, ses grosses molécules d'amidon et de cellulose. Il ne s'agit donc pas là d'une transformation de substances comme l'effectue la cellule animale, mais d'une véritable création, au cours de la-

quelle est emmagasinée l'énergie qui sera fournie aux autres êtres vivants se nourrissant de végétaux. Directement ou indirectement, toute la vie de notre globe dépend du pouvoir de synthèse de la cellule végétale (1).

Il n'est donc pas étonnant que les molécules de vitamines soient également fabriquées avec les mêmes procédés aussi simples qu'infailibles.

D'une manière générale, nous disons que la cellule végétale est autotrophe, la cellule animale hétérotrophe. L'organisme hétérotrophe doit vivre, directement ou indirectement, aux dépens d'un organisme autotrophe.

Les vitamines sont des composés chimiquement définis. Elles ont tout d'abord été extraites des organismes qui les contiennent, ce qui a permis leur identification chimique. L'industrie chimique est aujourd'hui capable de synthétiser la plupart d'entre elles : vitamine B₁, antinévrétique, vitamines du groupe B₂ : lactoflavine, acide parotothénique, adermine, acide nicotinique, biotine, vitamine C antiscorbutique (acide ascorbique), etc.

Cet étonnant pouvoir de synthèse n'est pas perdu par la cellule animale uniquement, mais aussi par certains végétaux inférieurs, Bactéries, Champignons. Voici comment on a pu s'en rendre compte. Ces organismes, hétérotrophes d'une manière générale, saprophytes ou parasites, peuvent être cultivés sur un *milieu de culture*. Celui-ci est l'équivalent du régime alimentaire de l'homme ou de l'animal. Il doit contenir une source de carbone, représentée généralement par du glucose, une source d'azote, ainsi que les sels minéraux indispensables, introduisant dans le milieu du phosphore, du soufre, du potassium et du magnésium. Un tel milieu, constitué par des éléments et des composés chimiquement connus, est appelé *milieu synthétique*. En réalité, le liquide nutritif contiendra encore de nombreux autres éléments, à l'état de traces, apportés comme impuretés par les autres constituants du milieu. Il n'en sera pas question ici.

Si la cellule bactérienne possède un pouvoir de synthèse suffisant, elle pourra, comme celle de la plante supérieure, édifier elle-même ses molécules de vitamines. Mais, et c'est ici qu'apparaît le fait nouveau, certaines Bactéries ou Champignons ne sont pas capables de se développer sur ce milieu synthétique. Il leur manque quelque chose, absent du milieu et impossible à fabriquer

par l'organisme en question. Il y a longtemps que ces phénomènes physiologiques ont été mis en évidence. On ne pouvait définir chimiquement ce qui manquait, mais simplement dire : ce sont des substances différentes des constituants habituels du milieu, absolument indispensables, et agissant à dose très faible. Elles sont présentes dans une foule de produits naturels. L'adjonction au milieu synthétique d'une goutte de lait, d'urine, de sang, de malt, de moût de bière, d'extrait de levure fait perdre au liquide nutritif ses qualités de milieu synthétique, puisqu'on ne sait exactement ce qu'on lui ajoute, mais lui confère la propriété de permettre le développement de nombreux organismes incapables de croître dans un milieu synthétique. On avait alors appelé ces substances mystérieuses des « facteurs de croissance ». Depuis 1934, on sait que ces singuliers facteurs de croissance ne sont pas autre chose que les vitamines connues en physiologie animale et humaine. L'identité est complète. Les principales vitamines dites animales sont effectivement des facteurs de croissance pour l'un ou l'autre de ces micro-organismes. Un point de vue nouveau est ainsi introduit. Les besoins de la cellule animale sont les mêmes que ceux de la cellule végétale. Elles réclament les mêmes vitamines qui, dans les deux cas, assument les mêmes fonctions. La seule différence réside dans le fait que, dans le premier cas, elles sont synthétisées. L'homme et l'animal souffrent d'avitaminoses, déclenchées par l'absence d'une ou plusieurs vitamines dans le régime alimentaire, et se manifestant par des symptômes divers. Une cellule bactérienne ou un champignon peuvent souffrir d'avitaminoses identiques, mais se manifestant d'une manière beaucoup plus simple, par un ralentissement ou un arrêt de la croissance. *Les vitamines sont partout nécessaires et doivent être partout présentes. L'unicellulaire le plus infime doit les contenir toutes.* N'avons-nous pas là le plus bel exemple de la puissance édifiatrice de la Vie ?

Les vitamines agissent à doses très faibles et sont présentes dans les produits naturels en très petites quantités. Il faut donc des méthodes spéciales pour les déterminer quantitativement. Les chimistes ont mis au point des méthodes très sensibles permettant un dosage précis. Cependant, le test biologique reste très en faveur. Son principe est, théoriquement, des plus simples. Un animal reçoit un régime contenant toutes les substances indispensables à sa croissance, toutes les vitamines nécessaires sauf celle qui doit être étudiée et dosée : l'avitaminose correspondante se manifeste. Pour

beaucoup de vitamines, il se produit un ralentissement ou un arrêt de la croissance. Nous ajoutons au régime la substance censée contenir la vitamine manquante. Les symptômes de l'avitaminose s'atténuent ou disparaissent et la croissance normale est rétablie. Sur la base de ce principe, diverses méthodes ont été mises au point qui permettent un dosage exact des vitamines.

Mais, pour que le test animal soit utilisable, il est nécessaire de disposer d'une quantité suffisante du matériel à analyser, ce qui n'est pas toujours le cas. D'autre part, le test animal n'est pas toujours d'une sensibilité suffisante et de très petites doses de vitamine — comme cela sera le cas pour le sol — ne peuvent être titrées avec précision. C'est ici que le test microbiologique nous rendra de très grands services.

Prenons un microorganisme dont la physiologie est semblable à celle de l'animal : il a perdu le pouvoir de synthétiser une vitamine déterminée. Celle-ci doit être ajoutée au milieu de base synthétique pour que la croissance puisse avoir lieu.

L'action de la vitamine sur le microorganisme est, d'une part, rigoureusement spécifique, d'autre part quantitative. C'est cette dernière caractéristique qui va nous permettre d'utiliser l'organisme comme test. En disant que l'action est quantitative, nous voulons dire que dans des limites définies, le développement du microorganisme sera proportionnel à la dose de vitamine présente. A partir de la dose optimale, déterminant le développement maximum compatible avec les conditions culturales utilisées, toute adjonction supplémentaire de vitamine sera sans effet. Un exemple le démontrera. Il s'agit d'une moisissure particulière, *Phycomyces blakesleeanus*. Nous avons 9 fioles coniques contenant des doses croissantes de vitamine B₁ (antinévritique) appelée aussi aneurine. Après une durée de culture déterminée, le thalle du champignon est extrait du milieu, séché à 100°, puis pesé. Nous obtenons donc le poids sec de matière vivante produite, qui sera proportionnel à la quantité de vitamine présente, grâce à laquelle la croissance a pu se produire.

dose de vitamine B ₁ , γ pour 25 cm ³ ¹⁾	0	0,01	0,02	0,06	0,1	0,2	0,4	0,8	1,6
poids du thalle obtenu, en mg	2	8,5	13,1	25,9	36,7	56,7	75,9	84,4	83,4

¹⁾ 1 γ = 1/1000 de mg ou 1/1.000.000 de g.

1 mγ = 1/1000 de γ ou 1/1.000.000.000 de g.

Nous avons donc là le principe d'une méthode simple, dans le détail de laquelle nous ne pouvons entrer, mais dont nous dirons simplement qu'elle permet de déterminer d'une manière globale, avec une précision suffisante, le taux en vitamine B₁ de divers produits naturels.

Comme on le voit, on peut déterminer la dose minimum de 0,01 γ soit 10 m γ ou 10/1.000.000.000 de g de vitamine B₁. La dose optimale se trouve vers 0,5 γ . En modifiant la méthode, on parvient à déterminer encore 1 m γ .

On constate donc la sensibilité très élevée de ces tests.

Pour de nombreuses vitamines hydrosolubles, nous possédons maintenant des tests appropriés. Un B. lactique (*Lactobacillus casei*) étudié par Snell et Strong, nous permet de déterminer la lactoflavine. La Levure (*Saccharomyces cerevisiae*), nous permet de titrer diverses vitamines en particulier la biotine (vitamine H). Avec ce test, nous pouvons facilement déceler la présence de 0,1 m γ de biotine dans 25 ccm. de milieu !

Nous pouvons maintenant aborder le problème qui fait l'objet de cet article. On sait depuis longtemps que des extraits de terre ont une action favorisante sur la croissance de certains microorganismes du sol. Lwoff, en 1935, a émis l'hypothèse qu'il s'agissait d'une action de facteur de croissance. Nous savons aujourd'hui qu'il s'agit bien de vitamines. L'un de mes collaborateurs, le Dr W. Müller, a étudié la question en détail dans sa thèse de doctorat (2 et 3). Il a travaillé avec une moisissure du sol, *Mucor Ramannianus*. L'une de ses souches fut d'ailleurs isolée d'un échantillon de terre du Valais provenant de la région d'Ausserberg. Cet organisme réclame également la vitamine B₁ comme facteur de croissance indispensable. Il est vrai qu'il peut, comme nous l'avons établi par la suite, se contenter d'une moitié de la molécule, c.-à-d. de la partie thiazol. Il ne se développera sur aucun milieu sans adjonction de vitamine B₁. S'il pousse, c'est que cette vitamine est présente dans le milieu.

Un échantillon de terre est l'objet d'une extraction prolongée à l'eau. Elle a permis d'extraire une partie appréciable des substances hydrosolubles qu'elle contient. Le liquide est concentré au 1/10 de son volume et une quantité déterminée, correspondant à 40 g de terre sèche, est ajoutée au milieu synthétique. Le champignon se développe : c'est donc que l'extrait de sol a introduit dans

le milieu le facteur de croissance nécessaire, c.-à-d. la vitamine B₁. Celle-ci est donc présente dans un sol naturel. Son taux est inversement proportionnel à la profondeur à laquelle l'échantillon de terre a été prélevé.

Le tableau suivant, extrait du travail de Müller, se rapportant à l'effet d'extraits de sol d'une forêt, prélevés à diverses profondeurs, le démontre.

Profondeur	Taux en azote de la terre	Poids sec du thalle
1- 3 cm.	1,24 %	28,5 mg.
6- 8 cm.	—	18 mg.
12-15 cm.	0,14 %	4,5 mg.

On peut en déduire que dans la première couche étudiée, la teneur en aneurine est au minimum de 0,1257 pour 100 g de terre. On constate que c'est dans la partie superficielle, la plus riche en substances organiques azotées, que le taux en vitamine B₁ est le plus élevé. Ces résultats ont été confirmés par divers biologistes. On a retrouvé dans le sol de la lactoflavine également (Carpenter 1943). Nous y avons décelé de la biotine (vitamine H), de l'adermine (vitamine B₆). Des recherches en cours de notre collaborateur M. M. Roulet semblent bien montrer que la distribution de la biotine dans le sol suit les mêmes règles que celle de l'aneurine.

Il va de soi que le taux et la distribution de vitamines déterminées dans un sol doit dépendre à la fois de la nature du sol et de l'association végétale peuplant ce dernier.

Nous avons donc montré que les facteurs vitaminiques existent dans le sol et de quelle manière on peut les déceler avec certitude. Nous nous demanderons maintenant quelle est leur origine ?

Un sol normal recèle de nombreux microorganismes : Bactéries, Champignons, Protozoaires, Flagellés. L'expérience a montré qu'un certain nombre d'entre eux sont incapables de faire la synthèse de leurs vitamines, tandis que d'autres, plus favorisés et plus indépendants, les fabriquent en abondance. Bonner et Greene (1938) analysent des cultures d'*Azotobacter* à l'aide du test *Phycomyces* et constatent que cette Bactérie fabrique 140 mg de vitamine B₁ par kg. !

Lorsqu'un microorganisme autotrophe pour ses vitamines est cultivé au laboratoire sur un milieu liquide, il diffuse dans le mi-

lieu, à partir des cellules vivantes ou mortes, des quantités très élevées de vitamine. Le milieu liquide en contient généralement beaucoup plus que les cellules qui sont le siège des biosynthèses. Parfois plus de 90 % du facteur vitaminique total synthétisé se retrouvent dans le milieu. Il est donc certain que dans le sol humide à partir des microorganismes vivants ou morts, une telle diffusion se produit également. D'autre part les cadavres microbiens se désintégrant et se décomposant libèrent également les facteurs qu'ils peuvent recéler. Nous avons donc là une source appréciable de facteurs vitaminiques.

D'autre part, toutes les substances organiques, végétales et animales se décomposant sur et dans le sol, siège de putréfactions déterminées par des bactéries qui également peuvent fabriquer des vitamines, contribuent par une autre voie à l'enrichissement du sol.

On sait que des vitamines peuvent diffuser de racines, de semences germant dans un endroit humide.

Nous les retrouvons dans les engrais naturels ce qui est compréhensible puisque certaines vitamines comme l'aneurine et la biotine et d'autres encore sont partiellement excrétées avec l'urine animale et humaine. Nous en avons retrouvé des quantités appréciables dans certains échantillons de fumier.

On voit donc que d'une manière ou d'une autre les facteurs vitaminiques arrivent en contact avec le sol, y sont libérés et peuvent s'y accumuler.

Quel est leur rôle dans le sol ? Leur présence doit-elle être considérée comme accidentelle ? Servent-elles à quelque chose ?

Nous savons que parmi les microorganismes du sol tous ne sont pas doués d'un pouvoir de synthèse total pour les vitamines. Il suffit, pour donner un exemple typique, d'évoquer à nouveau le cas de *Mucor Ramannianus* qui réclame le thiazol de l'aneurine comme facteur de croissance. Il est clair que les microorganismes ayant perdu, partiellement ou complètement, un pouvoir de synthèse profiteront des vitamines produites par les microorganismes possédant ce pouvoir de synthèse. Il pourra donc s'établir un premier équilibre et un premier groupe de relations entre divers types physiologiques de microorganismes.

La plante supérieure, verte, pourra-t-elle profiter des vitamines contenues dans le sol ? Nous abordons là, par une voie dé-

ournée, une question très actuelle. On a affirmé — nous ne pouvons entrer dans le détail et citer les travaux qui ont traité de cette question — que la vitamine B₁ (aneurine), ajoutée à l'eau d'arrosage favorisait le développement de certains végétaux. (Voir à ce sujet l'article de H. Guyot, [4]). Les résultats positifs sont aussi indubitables que les négatifs. Il semble que toutes les plantes ne réagissent pas de la même manière et que les résultats obtenus dépendent non seulement de l'état du végétal, mais aussi de celui du sol, ainsi que de la flore microbienne de ce dernier. On a certainement généralisé trop tôt et discrédité un problème des plus importants à tous les égards. Cependant, comme il est démontré que, sur certaines plantes tout au moins, l'aneurine ajoutée au sol, à des doses déterminées, exerce une action favorable, il paraît des plus probables que les vitamines contenues naturellement dans le sol agissent également de la même manière. On se heurte là à une difficulté : pour que la vitamine puisse agir, il faut qu'elle soit réellement absorbée. Or, les cellules radiculaires et les poils absorbants sont-ils perméables pour la molécule de vitamine hydrosoluble ? Ce sont surtout les substances inorganiques, dispersées à l'état moléculaire, qui couvrent les besoins de la plante verte en sels minéraux et en azote. Pourtant, force nous est d'admettre, sur la base d'expériences irréfutables, que des substances organiques, dont la molécule n'est point trop grosse et ne se trouvant pas à l'état colloïdal, peuvent également être absorbées par les racines, et, emportées par l'eau de circulation, s'intégrer au métabolisme du végétal. Des expériences faites en milieu liquide semblent montrer que l'aneurine, en particulier, peut être absorbée et retrouvée dans la plante. Cependant, il faudra encore beaucoup de recherches pour mettre cette question au point. Pour l'instant, nous ne savons pour ainsi dire rien au sujet des conditions d'absorption des vitamines par la plante supérieure et des facteurs qui gouvernent ces phénomènes. Cependant, nous pouvons envisager un second groupe de relations entre le sol et ses microorganismes d'une part, et la plante supérieure d'autre part.

Enfin, un troisième groupe de relations est indiscutable : celles qui existent entre les plantes supérieures synthétisant leurs vitamines et les animaux ne possédant pas ces pouvoirs de synthèse, les derniers étant dépendants des premières.

On voit donc sans difficulté les relations qui doivent s'établir entre la flore microbienne du sol, les végétaux supérieurs et les

animaux, par le canal des vitamines. On pense involontairement à une manière de « cycle », image des dépendances réciproques existant entre ces divers types physiologiques d'organismes. A vrai dire, le terme de cycle est employé ici dans son sens le plus large. On peut l'employer lorsqu'on étudie le passage d'un élément indestructible comme l'azote, le carbone au travers de divers métabolites synthétisés par divers êtres vivants. Ce n'est pas le cas ici, mais le terme de cycle peut tout de même être appliqué: il rend compréhensibles ces dépendances jusqu'alors insoupçonnées, déterminées par des quantités infimes de substances indispensables.

Comme on peut le constater, ce domaine si important est à peine exploré. Partout on se heurte à des problèmes nouveaux et fondamentaux pour la physiologie végétale.

Ce bref résumé rend compte de quelques faits certains et prouvés, sur lesquels se greffent des hypothèses de travail. Il est donc aussi un programme de travail. De plus, il témoigne de l'importance pratique indiscutable du problème.

On définit un sol par sa flore microbienne, ses qualités physiques, sa teneur en matières organiques, en azote et en diverses substances minérales. Nous estimons que sa teneur en vitamines est une nouvelle caractéristique avec laquelle il faudra compter.

1. W. H. SCHOPFER. — La question des vitamines considérée comme problème de physiologie générale. Mitt. d. Naturforsch. Ges. Bern, 1942, pp. 73-103.
 2. W. MUELLER. — Zur Physiologie von *Mucor Ramannianus*, Ber. schweiz. bot. Ges., 1937, 47, 277-283.
 3. W. MUELLER. — Zur Wirkstoffphysiologie des Bodenpilzes *Mucor Ramannianus*. Thèse de doctorat, Berne, Ber. schweiz. bot. Ges., 1941, 51, 165-256.
 4. H. GUYOT. — Plantes et vitamines B., Bull. de la Murithienne, 1942-43, 40, 91-99.
-